

NGHIÊN CỨU SỰ PHÁT SINH HÌNH THÁI CỦA CÂY BÁ BỆNH (*Eurycoma longifolia*) TỪ CÁC NGUỒN MÔ KHÁC NHAU DƯỚI TÁC ĐỘNG CỦA CHẤT ĐIỀU HÒA SINH TRƯỞNG THỰC VẬT

Trần Trọng Tuấn^{1*}, Nguyễn Lệ Hoa Tiên¹, Nguyễn Thị Dược¹,
Nguyễn Thị Huyền Trang¹, Đỗ Đăng Giáp¹, Trịnh Thị Hương²

¹Viện Sinh học Nhiệt đới

²Trường Đại học Công nghiệp Thực phẩm TP.HCM

*Email: trantrongtuan.com@gmail.com

Ngày nhận bài: 14/4/2020; Ngày chấp nhận đăng: 05/8/2020

TÓM TẮT

Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát ảnh hưởng của chất điều hoà sinh trưởng thực vật và loại mẫu cây đến quá trình phát sinh hình thái ở cây bá bệnh. Kết quả thu được cho thấy, đối với mẫu cây từ diệp, tỷ lệ hình thành mô sẹo và khối lượng tươi đạt cao nhất, lần lượt là 96,3% và 258 mg khi nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 3,0 mg/L NAA kết hợp với 0,5 mg/L BA; mô sẹo thu được có màu vàng, xốp. Đối với mẫu cây lá non, tỷ lệ hình thành mô sẹo và khối lượng tươi đạt cao nhất, lần lượt là 100% và 99 mg khi nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 0,5 mg/L NAA kết hợp với 0,5 mg/L BA; mô sẹo thu được có màu trắng, xốp. Đối với mẫu cây cuống lá non, tỷ lệ hình thành mô sẹo và khối lượng tươi đạt cao nhất, lần lượt là 100% và 56 mg khi nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung 1,0 mg/L NAA kết hợp với 2,0 mg/L BA; mô sẹo thu được có màu trắng, xốp. Sự phát sinh hình thái mô sẹo của cả 3 loại mẫu trên môi trường nuôi cấy có bổ sung 6-benzylaminopurine (BA) kết hợp với thidiazuron (TDZ) cho hiệu quả thấp hơn so với khi sử dụng BA kết hợp với NAA. Mô sẹo thu được có hình thái và màu sắc khác nhau, đây sẽ là nguồn nguyên liệu phục vụ cho nhiều hướng nghiên cứu tiếp theo như: nuôi cấy phát sinh phôi, nuôi cấy huyền phù thu nhận hợp chất thứ cấp... Trong nghiên cứu phát sinh rễ bất định của mẫu lá *in vitro*, NAA thích hợp cho sự hình thành rễ bất định của *Eurycoma longifolia*. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ mẫu hình thành rễ, số rễ/mẫu và chiều rễ trung bình đạt được cao nhất, lần lượt là 80%, 2,5 rễ/mẫu, 23,8 mm, tỷ lệ mẫu tạo rễ 80,0% ở nghiệm thức sử dụng 1,0 mg/L NAA. Không có sự hình thành rễ ở mẫu lá *ex vitro* ở tất cả các nghiệm thức.

Từ khoá: BA, cây bá bệnh, cuống lá, lá, mô sẹo, NAA, TDZ, từ diệp.

1. MỞ ĐẦU

Cây bá bệnh là một loại cây dược liệu thuộc họ Thanh thất có tên khoa học là *Eurycoma longifolia*, phân bố trong khu vực Đông Nam Á như Malaysia, Việt Nam, Lào, Indonesia, Thái Lan, Myanmar, Cambodia [1]. Cây bá bệnh được sử dụng làm dược liệu trong y học cổ truyền, bên cạnh chức năng điều trị bệnh sốt rét và tăng cường sinh lý [2], cây bá bệnh còn có nhiều công dụng khác như lá cây được sử dụng để trị ngứa, quả dùng để điều trị kiết lị [3], vỏ cây được sử dụng như một loại thuốc xổ giun, rễ cây được dùng làm thuốc điều trị huyết áp cao, vỏ rễ điều trị tiêu chảy và sốt [4]. Các chiết xuất từ rễ được dùng để điều trị các bệnh như rối loạn chức năng tình dục, lão hóa, ung thư, sốt rét, tiểu đường, lo âu, căng thẳng, táo bón, đau nhức, bệnh bạch cầu, loãng xương, giang mai, sưng các tuyến; chúng cũng được sử dụng như thuốc kháng sinh, dùng kích thích thèm ăn, bồi bổ sức khỏe và giúp phục hồi thể lực [5].

Cho đến nay, ở nước ta cũng như các nước khác đã có nhiều nghiên cứu về tác dụng dược lý, hoạt tính sinh học, nhân giống và đặc điểm sinh thái của loài cây này. Tại Việt Nam từ năm 1968 các nhà khoa học thuộc nhóm nghiên cứu của Lê Văn Thời và Nguyễn Ngọc Suong đã nghiên cứu và chiết xuất các hoạt chất sinh học trong cây bá bệnh. Trong nghiên cứu này, từ vỏ và lá của cây bá bệnh đã chiết xuất được 7 hợp chất là β -sistosterol, campesterol, 2,6-dimethoxybenzoquinone, eurycomalacton, dihydroeurycomalacton A, laurylacton, laurylacton B [6]. Năm 2016, Phạm Bích Ngọc và cộng sự đã tìm ra một chất thuộc nhóm alkaloid mới từ rễ tóc của cây bá bệnh (*Eurycoma longifolia*) là β -carboline alkaloid 7-methoxy-(9H- β -carbolin-1-yl)-(E)-1-propenoic acid [7]. Bên cạnh nghiên cứu về phương pháp tách chiết các chất có hoạt tính và thử nghiệm hoạt tính sinh học, thì nuôi cấy mô loại cây này cũng đã được nghiên cứu. Năm 2010, Mahmood và cộng sự đã nghiên cứu cảm ứng mô sẹo từ các cơ quan của cây bá bệnh. Nguồn mẫu được sử dụng là lá, cuống lá, cuống, thân, rễ chính, rễ xơ, lá mầm và nuôi cấy trên môi trường có bổ sung chất điều hòa sinh trưởng khác nhau như 2,4-D, IAA (axit β -indolyacetic), NAA, picloram, dicamba [8]. Năm 2012, Hussein và cộng sự công bố ảnh hưởng của auxin, nồng độ đường và nguồn carbohydrate lên khả năng hình thành rễ bất định từ nuôi cấy mẫu lá của cây bá bệnh [9]. Năm 2015, Zawawi và cộng sự công bố nghiên cứu cảm ứng tạo phôi trực tiếp từ mẫu từ diệp sử dụng TDZ (thidiazuron). Kết quả cho thấy trên môi trường MS bổ sung 0,1 mg/L zeatin và 0,2 mg/L IBA 15% mẫu cây hình thành phôi và khi bổ sung thêm 0,12 mg/L TDZ thì tỷ lệ hình thành phôi tăng 20%. Trong nghiên cứu này, phôi thứ cấp được cảm ứng hình thành trên môi trường MS bổ sung 2,0 mg/L IBA và 0,075 mg/L TDZ với tỷ lệ 20%. Phôi tái sinh trực tiếp này có thể sử dụng tiếp tục tái sinh cây nhằm nhân giống cây bá bệnh [10].

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Vật liệu *ex vitro*: Hạt, lá non (14 ngày tuổi), lá (60 ngày tuổi), cuống lá non của cây bá bệnh thu hái tại vườn ươm của Viện Sinh học Nhiệt đới được sử dụng làm nguồn nguyên liệu của nghiên cứu này. Các nguồn mẫu *ex vitro* này được rửa sạch dưới vòi nước. Sau đó, các mẫu này được khử trùng với cồn 70° trong 30 giây. Tiếp theo, nguồn mẫu này được khử trùng với dung dịch HgCl₂ 0,1% trong thời gian 15, 6, 10 phút tương ứng với các mẫu hạt, lá non, cuống lá non. Cuối cùng, mẫu được rửa lại với nước cất vô trùng cho đến khi loại bỏ hết dung dịch khử trùng. Nguồn mẫu sau khử trùng được nuôi cấy trên môi trường MS để theo dõi tỷ lệ nhiễm và tỷ lệ sống của mẫu. Sau 2 tuần nuôi cấy, những mẫu sống và không nhiễm được sử dụng làm nguồn vật liệu cho các nghiên cứu ở nội dung 1.

Mẫu lá được thu nhận từ cây bá bệnh *in vitro* có nguồn gốc từ hạt được sử dụng làm nguồn nguyên liệu cho nội dung 2.

2.2. Môi trường nuôi cấy

Môi trường Murashige và Skoog (MS) có bổ sung 30 g/L sucrose, 8 g/L agar và chất điều hòa sinh trưởng thực vật được bổ sung khác nhau theo từng thí nghiệm [11]. Môi trường được điều chỉnh pH 5,8 trước khi hấp khử trùng ở 121 °C, 1 atm trong 15 phút.

2.3. Phương pháp bố trí thí nghiệm

2.3.1. Nội dung 1. Khảo sát ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh hình thái từ các nguồn mẫu *ex vitro*

Chuẩn bị mẫu cấy

Mẫu hạt sau khi khử trùng sẽ loại bỏ lớp vỏ cứng bên ngoài, thu lấy phần tử diệp. Sau đó, mẫu tử diệp được cắt với kích thước 3×2 mm (ngang \times dọc).

Mẫu lá non và cuống lá non sau khi khử trùng sẽ loại bỏ phần hư hại bên ngoài do khử trùng. Tiếp theo mẫu lá và cuống lá được cắt với kích thước tương ứng là 4×1 mm và 3×1 mm (ngang \times dọc).

Mẫu lá sau khi khử trùng sẽ loại bỏ phần hư hại bên ngoài do khử trùng. Tiếp theo mẫu lá được cắt với kích thước là 10×5 mm (ngang \times dọc).

Khảo sát ảnh hưởng của BA và NAA lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây tử diệp, lá non, cuống lá non

Các mẫu cây lớp mỏng của tử diệp, lá non và cuống lá non được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA (với nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L) kết hợp với NAA (với nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 mg/L). Mỗi nghiệm thức cấy 10 bình và mỗi bình 3 mẫu.

Khảo sát ảnh hưởng của BA và TDZ lên sự phát sinh hình thái của mẫu tử diệp, lá non, cuống lá non

Các mẫu cây lớp mỏng của tử diệp, lá non, cuống lá non được nuôi cấy trên môi trường MS có bổ sung BA (với nồng độ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L) kết hợp với TDZ (với nồng độ 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 mg/L). Mỗi nghiệm thức cấy 10 bình và mỗi bình 3 mẫu.

Khảo sát ảnh hưởng của IAA, IBA, NAA riêng lẻ với nồng độ khác nhau lên khả năng phát sinh rễ bất định từ lá ex vitro của cây bá bệnh

Mẫu lá bá bệnh sau khi khử trùng được nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản bổ sung 30 g/L sucrose, 8,0 g/L agar và IAA, IBA, NAA riêng lẻ với nồng độ thay đổi khác nhau như 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/L. Mỗi nghiệm thức cấy 10 bình và mỗi bình 3 mẫu.

2.3.2. Nội dung 2. Khảo sát ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh hình thái từ nguồn mẫu in vitro

Mẫu lá *in vitro* được cắt ra thành từng mẫu có kích thước 10×5 mm, sau đó được nuôi cấy trên môi trường MS cơ bản bổ sung 30,0 g/L sucrose, 8,0 g/L agar và IAA, IBA, NAA riêng lẻ với nồng độ thay đổi khác nhau như 0,5; 1,0; 1,5; 2,0. Mỗi nghiệm thức cấy 10 bình và mỗi bình 3 mẫu.

2.3.3. Điều kiện nuôi cấy

Các thí nghiệm được thực hiện ở điều kiện nhiệt độ: 24 ± 2 °C; độ ẩm: 55-60%; thời gian chiếu sáng: 12 giờ/ngày với cường độ chiếu sáng: 40 ± 2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

2.3.4. Chỉ tiêu theo dõi và phương pháp xử lý số liệu

Thí nghiệm được bố trí hoàn toàn ngẫu nhiên. Số liệu được ghi nhận và xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 16.0 và phần mềm MicroSoft Excel[®] 2007, theo phương pháp Duncan [12] với độ tin cậy 95%.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nội dung 1: Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh hình thái từ các nguồn mẫu *ex vitro*

3.1.1. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự phát sinh hình thái của mẫu lớp mỏng tử diệp

Quá trình phát sinh hình thái trong nuôi cấy *in vitro* là kết quả của quá trình biệt hóa và phân biệt hóa. Quá trình này phụ thuộc nhiều vào tỷ lệ của hai nhóm chất điều hòa sinh trưởng thực vật (CĐHSTTV) chính là auxin và cytokinin, và trong nhiều trường hợp, quá trình phát sinh hình thái thường bắt đầu bằng việc cảm ứng tạo mô sẹo. Trong thí nghiệm này, kết quả thu được cho thấy, ở nghiệm thức không có bổ sung CĐHSTTV, mẫu cấy có màu xanh và chỉ phồng lên mà không có sự cảm ứng hình thành mô sẹo. Kết quả tương tự cũng thu được ở các nghiệm thức chỉ bổ sung BA riêng lẻ (không bổ sung NAA). Ngược lại, ở các thí nghiệm sử dụng NAA riêng lẻ (không bổ sung BA), kết quả thu được cho thấy, tỷ lệ hình thành mô sẹo và khối lượng mô sẹo tăng dần khi tăng nồng độ NAA từ 0,5 mg/L đến 3,0 mg/L. Tuy nhiên, khi tiếp tục tăng nồng độ NAA lên 3,5 mg/L và 4,0 mg/L, tỷ lệ mẫu tạo sẹo và khối lượng mô sẹo bắt đầu giảm (Bảng 1), các mẫu tử diệp tiếp xúc với môi trường bắt đầu hóa nâu.

Trong thí nghiệm này, ở các nghiệm thức có sự kết hợp giữa NAA và BA, mẫu cấy đều có cảm ứng tạo thành mô sẹo, tuy nhiên tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo và khối lượng mô sẹo hình thành cũng như hình thái mô sẹo thu được có sự khác biệt nhau giữa các nghiệm thức (Bảng 1). Trong đó, tại nghiệm thức sử dụng 3 mg/L NAA kết hợp với 0,5 mg/L BA thu được tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo và khối lượng tươi của mô sẹo cao nhất (tương ứng là 96,3% và 258 mg); mô sẹo thu được có màu vàng và xốp (Hình 1a). Ban đầu để mô sẹo có thể được cảm ứng chỉ cần auxin hoặc cytokinin riêng rẽ, nhưng để tiếp tục duy trì sự phát triển của mô sẹo, sự kết hợp giữa auxin và cytokinin là cần thiết. Vì vậy, việc cảm ứng tạo mô sẹo thường đòi hỏi sự kết hợp giữa auxin và cytokinin [13]. Trong thí nghiệm này, khi môi trường được bổ sung BA với nồng độ từ 0,5-2,0 mg/L kết hợp với NAA (nồng độ từ 0,5-4,0 mg/L) kết quả cho thấy rằng, sự kết hợp này đạt hiệu quả tốt trong việc hình thành mô sẹo cũng như gia tăng khối lượng mô sẹo.

Quan sát hình thái của các mẫu mô sẹo trong các thí nghiệm này cho thấy, có nhiều dạng mô sẹo được tạo thành (trắng xanh, vàng nâu, vàng, cứng, xốp). Trong đó hầu hết ở các nghiệm thức có bổ sung NAA ở nồng độ cao (3,0-4,0 mg/L) mô sẹo có màu vàng mỡ gà, xốp. Đây có thể là nguồn nguyên liệu để tạo phôi đối với loài cây này. Trong nghiên cứu ở cây bá bệnh, Hussein *et al.* (2012) cho thấy những mẫu mô sẹo được hình thành từ tử diệp có khả năng hình thành phôi [9].

Do vậy trong thí nghiệm này, mẫu cây tử diệp được nuôi cấy trên môi trường MS bổ sung 3,0 mg/L NAA kết hợp 0,5 mg/L BA cho tỷ lệ hình thành mô sẹo và khối lượng tươi cao nhất.

3.1.2. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây lá non

Sau 45 ngày nuôi cấy, kết quả thu được tương tự với thí nghiệm trên mẫu cây tử diệp. Ở các nghiệm thức không bổ sung CĐHSTTV hoặc chỉ bổ sung BA riêng lẻ, mẫu không có sự cảm ứng tạo thành mô sẹo. Các mẫu cấy chỉ cảm ứng tạo thành mô sẹo khi môi trường nuôi cấy có sự hiện diện của NAA ở nồng độ từ 0,5-3,0 mg/L. Khi sử dụng NAA ở nồng độ từ 3,5-4,0 mg/L (có kết hợp hoặc không kết hợp BA), các mẫu lá non nuôi cấy đều không cảm ứng tạo mô sẹo, mà hoá nâu và chết (Bảng 2). Điều này cho thấy, mẫu cây lá non nhạy cảm với nồng độ NAA hơn mẫu cây tử diệp. Đối với mẫu cây lá non, sự hiện diện của NAA trong môi trường nuôi cấy là cần thiết để mẫu cảm ứng tạo thành mô sẹo, nhưng chỉ với nồng độ thấp từ 0,5-3,0 mg/L.

Bảng 1. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây từ điệp sau 45 ngày nuôi cấy

CĐHSTTV (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Khối lượng tươi (mg)	Đặc điểm hình thái mẫu
NAA	BA			
0,0	0,0 – 2,0	0,00	-	Phòng, xanh
0,5	0,0	0,00	-	Phòng, xanh
	0,5	22,22	196 ^{b*}	Phòng, xanh
	1,0	37,37	170 ^{cd}	Phòng, xanh
	1,5	22,22	122 ^{hi}	Phòng, xanh
	2,0	11,11	111 ^{ij}	Phòng, xanh
1,0	0,0	11,11	92 ^{kl}	Phòng, xanh
	0,5	29,63	153 ^{ef}	Xanh nâu, cứng
	1,0	44,44	125 ^{gh}	Nâu, cứng
	1,5	51,85	81 ^{kl}	Nâu, cứng
	2,0	66,67	103 ^{jk}	Vàng, xộp
1,5	0,0	29,63	92 ^{kl}	Vàng nâu, cứng
	0,5	62,96	107 ^{ij}	Vàng nâu, cứng
	1,0	88,89	140 ^{fg}	Trắng xanh, cứng
	1,5	92,60	101 ^{jk}	Vàng nâu, xộp
	2,0	96,30	109 ^{ij}	Vàng nâu, xộp
2,0	0,0	33,33	130 ^{gh}	Phòng, xanh
	0,5	88,89	171 ^{cd}	Vàng nâu, cứng
	1,0	96,30	123 ^{gh}	Vàng nâu, cứng
	1,5	66,67	117 ^{ij}	Vàng nâu, cứng
	2,0	51,85	103 ^{jk}	Vàng nâu, cứng
2,5	0,0	51,85	137 ^{fg}	Phòng, xanh
	0,5	92,60	166 ^{de}	Trắng xanh, xộp
	1,0	96,30	171 ^{cd}	Trắng, xộp
	1,5	74,07	89 ^{kl}	Vàng, cứng
	2,0	74,07	69 ^{kl}	Vàng, xộp
3,0	0,0	70,37	175 ^{bc}	Vàng, cứng
	0,5	96,30	258 ^a	Vàng, xộp
	1,0	88,90	145 ^{ef}	Vàng, xộp
	1,5	88,89	123 ^{gh}	Vàng, xộp
	2,0	74,07	88 ^{kl}	Vàng, xộp
3,5	0,0	62,96	138 ^{fg}	Xanh, cứng
	0,5	100,00	147 ^{ef}	Vàng, xộp
	1,0	100,00	137 ^{fg}	Vàng, xộp
	1,5	96,30	107 ^{ij}	Vàng, xộp
	2,0	92,59	69 ^{kl}	Vàng, xộp
4,0	0,0	62,96	90 ^{kl}	Xanh, cứng
	0,5	74,07	137 ^{fg}	Xanh, cứng
	1,0	77,78	97 ^{kl}	Vàng, xộp
	1,5	100,00	116 ^{ij}	Vàng, xộp
	2,0	96,30	124 ^{ij}	Vàng, xộp
P			*	

*Các chữ cái a, b... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p = 0,05$.

Nghiên cứu sự phát sinh hình thái của cây bá bệnh (*Eurycoma longifolia*) từ các nguồn mô...

Ở các nghiệm thức kết hợp giữa NAA (0,5-3,0 mg/L) và BA (0,5-2,0 mg/L), hiệu quả tạo mô sẹo cao hơn so với sử dụng NAA riêng lẻ; tuy nhiên, tỷ lệ mẫu tạo thành mô sẹo và khối lượng tươi của mô sẹo có sự khác nhau giữa các nghiệm thức. Trong đó, nghiệm thức sử dụng 0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L BA và nghiệm thức sử dụng 1,0 mg/L NAA+ 0,5 mg/L BA, tỷ lệ mẫu tạo thành mô sẹo và khối lượng tươi của mô sẹo đạt cao nhất (tương ứng là 100% và 99 mg, 96 mg) (Bảng 2, Hình 1b). Kết quả này tương tự như các kết quả khảo sát của Hussein *et al.* (2012) ở cây bá bệnh [9]. Quan sát hình thái cho thấy, mô sẹo ban đầu hình thành ở vùng gân chính sau đó hình thành xung quanh rìa lá, ngay vết cắt. Hình thái mô sẹo thu được cũng khác với mô sẹo phát sinh từ mẫu từ diệp. Hầu hết mô sẹo thu được có màu trắng, xốp.

Bảng 2. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây lá non sau 45 ngày nuôi cấy

CĐHSTTV (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Khối lượng tươi (mg)	Đặc điểm hình thái mẫu
NAA	BA			
0	0,0 – 2,0	0,00	-	-
0,5	0,0	44,44	53 ^{cde*}	Trắng, nhỏ
	0,5	100,00	99 ^a	Trắng, xốp
	1,0	100,00	87 ^{abc}	Trắng, nhỏ
	1,5	94,44	56 ^{bcd}	Trắng, nhỏ
	2,0	55,56	89 ^{abc}	Trắng, nhỏ
1,0	0,0	61,11	55 ^{bcd}	Trắng, xốp
	0,5	100,00	96 ^a	Trắng, xốp
	1,0	94,44	89 ^{abc}	Trắng, xốp
	1,5	83,33	94 ^{ab}	Trắng, xốp
	2,0	66,67	75 ^{abc}	Trắng, xốp
1,5	0,0	33,33	20 ^{def}	Trắng, nhỏ
	0,5	38,89	23 ^{def}	Trắng, nhỏ
	1,0	72,22	94 ^{ab}	Trắng, xốp
	1,5	61,11	21 ^{def}	Trắng, nhỏ
	2,0	50,00	18 ^{def}	Trắng, nhỏ
2,0	0,0	33,33	13 ^{ef}	Trắng, nhỏ
	0,5	83,33	20 ^{def}	Trắng, nhỏ
	1,0	55,56	24 ^{def}	Trắng, nhỏ
	1,5	61,11	18 ^{def}	Trắng, nhỏ
	2,0	61,11	13 ^{ef}	Trắng, nhỏ
2,5	0,0	11,11	7 ^f	Trắng, xốp
	0,5	44,44	10 ^f	Trắng, nhỏ
	1,0	22,22	20 ^{def}	Trắng, nhỏ
	1,5	11,11	8 ^f	Trắng, nhỏ
	2,0	0,00	6 ^f	Trắng, nhỏ
3,0	0,0	0,00	-	-
	0,5	50,00	17 ^{def}	Trắng, nhỏ
	1,0	38,89	9 ^f	Trắng, nhỏ
	1,5	11,11	6 ^f	Trắng, nhỏ
	2,0	11,11	10 ^f	Trắng, nhỏ
3,5	0,0 – 2,0	0	-	-
4,0	0,0 – 2,0	0	-	-
P			*	

*Các chữ cái a, b... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức p = 0,05.

3.1.3. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây cuống lá non

Đối với mẫu nuôi cấy là cuống lá non, khi môi trường nuôi cấy không bổ sung NAA hoặc bổ sung NAA từ 1,5 mg/L trở lên (có kết hợp hoặc không kết hợp BA), tất cả các mẫu cuống lá nuôi cấy đều không cảm ứng tạo thành mô sẹo và chết. Sự cảm ứng tạo thành mô sẹo chỉ xảy ra khi môi trường nuôi cấy có sự hiện diện của NAA ở nồng độ thấp từ 0,5-1,0 mg/L. Trong đó, nghiệm thức sử dụng 1,0 mg/L NAA + 2,0 mg/L BA, tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo và khối lượng tươi của mô sẹo cao nhất (tương ứng là 100% và 56 mg); mô sẹo tạo thành có màu nâu và xốp (Bảng 3, Hình 1c). Việc cảm ứng tạo mô sẹo thường đòi hỏi sự kết hợp giữa auxin và cytokinin [13]. Sandra *et al.* (1987) báo cáo rằng, với mẫu cây cuống lá cây phong đỏ trên môi trường MS bổ sung BA kết hợp NAA cho tỷ lệ tạo mô sẹo và khối lượng tươi tốt hơn so với môi trường chỉ bổ sung NAA riêng lẻ [14]. Kết quả của thí nghiệm này khẳng định vai trò của cytokinin và auxin trong quá trình biệt hóa ở các loài thực vật và khả năng cảm ứng của các nguồn mẫu khác nhau thì khác nhau.

Bảng 3. Ảnh hưởng của BA và NAA lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây cuống lá non sau 45 ngày nuôi cấy

CĐHSTTV (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Khối lượng tươi (mg)	Đặc điểm hình thái mẫu
NAA	BA			
0,0	0,0 - 2,0	-	-	-
0,5	0,0	58,33	14 ^{bc}	Trắng, nhỏ
	0,5	58,33	44 ^{ab}	Trắng, xốp
	1,0	41,67	15 ^{bc}	Trắng, xốp
	1,5	25,00	10 ^c	Trắng, xốp
	2,0	0,00	-	-
1,0	0,0	75	38 ^{abc}	Trắng, xốp
	0,5	100	39 ^{abc}	Trắng, xốp
	1,0	100	42 ^{abc}	Trắng, xốp
	1,5	100	29 ^{abc}	Trắng, xốp
	2,0	100	56 ^a	Trắng, xốp
1,5 - 4,0	0,0 - 2,0	0	-	-
P			*	

*Các chữ cái a, b... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p=0,05$.

3.1.4. Ảnh hưởng của BA kết hợp TDZ lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây tử diệp

Khi nuôi cấy mẫu tử diệp trên môi trường có bổ sung BA và TDZ kết hợp hoặc riêng lẻ, kết quả thu được cho thấy, ở các nghiệm thức bổ sung 0,2 mg/L TDZ kết hợp hoặc không kết hợp với BA (nồng độ 0,5-2,0 mg/L), mẫu nuôi cấy không cảm ứng tạo thành mô sẹo, chỉ duy trì trạng thái màu xanh của mẫu ban đầu. Các nghiệm thức có bổ sung TDZ ở các nồng độ tiếp theo (từ 0,4-1,0 mg/L TDZ) kết hợp với BA (0,5-2,0 mg/L), tất cả mẫu cây đều có sự cảm ứng tạo thành mô sẹo. Tuy nhiên, tỷ lệ tạo thành mô sẹo và khối lượng của mô sẹo thu được trong thí nghiệm này thấp hơn so với nuôi cấy mẫu tử diệp trên môi trường có bổ sung BA kết hợp với NAA. Trong thí nghiệm này, tỷ lệ mẫu tạo thành mô sẹo đạt cao hơn 50% chỉ ở 3 nghiệm

Nghiên cứu sự phát sinh hình thái của cây bá bệnh (*Eurycoma longifolia*) từ các nguồn mô...

thức là 0,4 mg/L TDZ kết hợp với 0,5-1,5 mg/L BA (tương ứng là 77,78; 55,56 và 51,85%). Khối lượng tươi của mẫu có sự khác biệt đáng kể về mặt thống kê ở các nghiệm thức khảo sát. Tại nghiệm thức 0,4 mg/L TDZ + 0,5 mg/L BA, khối lượng tươi của mẫu thu được đạt cao nhất (136 mg) (Bảng 4).

Quan sát về mặt hình thái nhận thấy, các mẫu nuôi cấy trên môi trường có bổ sung 0,4 mg/L TDZ thu được mô sẹo màu vàng, cứng. Khi nồng độ TDZ tăng lên 0,6-1,0 mg/L, mô sẹo thu được màu vàng nâu, cứng; và màu nâu của mô sẹo càng đậm dần khi nồng độ TDZ càng tăng dần. Như vậy, bổ sung TDZ ở nồng độ thấp (0,2 mg/L) hoặc nồng độ cao hơn 0,6 mg/L đều không thích hợp cho sự hình thành mô sẹo của mẫu cây từ điệp cây bá bệnh.

Bảng 4. Ảnh hưởng của BA kết hợp TDZ lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây từ điệp sau 45 ngày nuôi cấy

CĐHSTTV (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Khối lượng tươi (mg)	Đặc điểm hình thái mẫu
TDZ	BA			
0,2	0,0 – 2,0	0	-	Xanh
0,4	0,0	33,33	54 ^c	Vàng, cứng
	0,5	77,78	65 ^c	
	1,0	55,56	136 ^a	
	1,5	51,85	51 ^c	
	2,0	44,44	46 ^c	
0,6	0,0	33,33	123 ^{ab}	Vàng nâu, cứng
	0,5	37,04	75 ^{bc}	
	1,0	37,04	67 ^c	
	1,5	33,33	50 ^c	
	2,0	33,33	45 ^c	
0,8	0,0	11,11	65 ^c	Vàng nâu, cứng
	0,5	33,33	41 ^c	
	1,0	37,04	75 ^{bc}	
	1,5	33,33	41 ^d	
	2,0	29,63	49 ^c	
1,0	0,0	7,41	82 ^{bc}	Vàng nâu, cứng
	0,5	11,11	48 ^c	
	1,0	29,63	47 ^c	
	1,5	29,63	69 ^c	
	2,0	14,81	42 ^c	
P			*	

*Các chữ cái a, b...: trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p = 0,05$.

3.1.5. Ảnh hưởng của BA và TDZ lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây lá non

Đối với mẫu cây lá non, khi môi trường nuôi cấy có bổ sung TDZ ở nồng độ từ 0,6-1,0 mg/L kết hợp với BA (0,5-2,0 mg/L), tất cả mẫu lá đều hoá nâu và chết. Mẫu cây chỉ cảm ứng tạo thành mô sẹo ở các nghiệm thức có bổ sung TDZ (nồng độ từ 0,2-0,4 mg/L) kết hợp với BA (nồng độ 0,5-2,0 mg/L) (Bảng 5). Ở các nghiệm thức này, mô sẹo xuất hiện sau 20 ngày nuôi cấy, ban đầu mô sẹo hình thành tại phần gân lá và vết cắt, sau đó lớn dần lên. Tỷ lệ mẫu lá tạo thành mô sẹo và khối lượng tươi mẫu đạt cao nhất thu được ở nghiệm thức 0,2 mg/L TDZ + 1,5 mg/L BA, tương ứng là 60% và 19 mg. Mô sẹo thu được màu trắng và xốp, thích hợp là nguồn vật liệu cho các nuôi cấy tạo huyền phù (Bảng 5, Hình 1b).

Bảng 5. Ảnh hưởng của BA kết hợp TDZ lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây lá non sau 45 ngày nuôi cấy

CĐHSTTV (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Khối lượng tươi (mg)	Đặc điểm hình thái mẫu
TDZ	BA			
0,2	0,0	21,00	13 ^{ab}	Trắng, nhỏ
	0,5	26,67	24 ^{ab}	Trắng, nhỏ
	1,0	46,67	10 ^b	Trắng, nhỏ
	1,5	60,00	19 ^{ab}	Trắng, xốp
	2,0	53,33	21 ^{ab}	Trắng, nhỏ
0,4	0,0	26,67	28 ^a	Trắng, xốp
	0,5	21,00	13 ^{ab}	Trắng, xốp
	1,0	6,67	24 ^{ab}	Trắng, xốp
	1,5	6,67	8 ^b	Trắng, nhỏ
	2,0	6,67	7 ^b	Trắng, nhỏ
0,6 – 1,0	0,0 – 2,0	0	-	-
P			*	

**Các chữ cái a, b, c... thể hiện sự khác biệt của các kết quả ở cùng một cột và có ý nghĩa ở mức p = 0,05*

3.1.6. Ảnh hưởng của BA kết hợp TDZ lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây cuống lá non

Kết quả thu được trong thí nghiệm này cũng tương tự với trường hợp sử dụng mẫu lá non. Tất cả các mẫu cuống lá đều hoá nâu và chết khi được nuôi cấy trên môi trường có bổ sung TDZ (ở nồng độ 0,6-1,0 mg/L) kết hợp với BA (0,5-2,0 mg/L). Sự cảm ứng tạo thành mô sẹo chỉ xảy ra khi sử dụng TDZ trong môi trường nuôi cấy với nồng độ 0,2-0,4 mg/L kết hợp với BA (0,5-2,0 mg/L), tuy nhiên tỷ lệ mẫu tạo thành mô sẹo cũng như khối lượng tươi của mô sẹo thu được tương đối thấp. Trong đó, nghiệm thức cho tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (60%) và khối lượng tươi mô sẹo (39 mg) cao nhất là 0,4 mg/L TDZ + 1,0 mg/L BA. Ở các nghiệm thức này, mô sẹo cảm ứng hình thành sau khoảng 8 ngày nuôi cấy, xuất hiện đầu tiên ở vị trí vết thương, sau đó phát triển thành khối, và mô sẹo thu được màu trắng, xốp (Bảng 6, Hình 1b).

Bảng 6. Ảnh hưởng của BA kết hợp TDZ lên sự phát sinh hình thái của mẫu cây cuống lá non sau 45 ngày nuôi cấy

CDHSTTV (mg/L)		Tỷ lệ mẫu tạo mô sẹo (%)	Khối lượng tươi (mg)	Đặc điểm hình thái mẫu
TDZ	BA			
0,2	0,0	40,00	21 ^{bc}	Trắng, xốp
	0,5	53,33	26 ^b	Trắng, xốp
	1,0	46,67	25 ^b	Trắng, xốp
	1,5	26,67	9 ^c	Trắng, xốp
	2,0	6,67	19 ^{bc}	Trắng, xốp
0,4	0,0	33,33	19 ^{bc}	Trắng, xốp
	0,5	33,33	15 ^{bc}	Trắng, xốp
	1,0	60,00	39 ^a	Trắng, xốp
	1,5	13,33	10 ^c	Trắng, xốp
	2,0	6,67	19 ^{bc}	Trắng, xốp
0,6 – 1,0	0,0 – 2,0	0	-	-
P			*	

*Các chữ cái a, b... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p = 0,05$.

3.1.7. Khảo sát ảnh hưởng của IAA, IBA, NAA với nồng độ khác nhau lên khả năng phát sinh rễ bất định từ lá *ex vitro* của cây bá bệnh

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh vai trò của auxin lên khả năng hình thành và nhân nhanh rễ bất định trên nhiều đối tượng như sâm Ngọc Linh, cây nhàu,... Nuôi cấy rễ bất định làm gia tăng sinh khối tế bào đang là lựa chọn hàng đầu để sản xuất các hợp chất thứ cấp từ thực vật. Trong đó, auxin là một trong những nhân tố quyết định hiệu quả và tốc độ phát triển của qui trình trên. Do đó, trong thí nghiệm này một số loại auxin phổ biến như IAA, IBA, NAA được sử dụng để khảo sát sự phát sinh rễ từ mẫu lá bá bệnh *ex vitro*.

Sau 45 ngày nuôi cấy, mẫu lá cây bá bệnh *ex vitro* đều không cảm ứng tạo rễ trên môi trường khảo sát. Môi trường bổ sung IAA và IBA ở tất cả ở nghiệm thức mẫu không đáp ứng tạo rễ hay sẹo, mẫu lá xanh hóa nâu trên môi trường và chết. Với môi trường khảo sát bổ sung NAA ở nghiệm thức 0,5 và 1,0 mg/L NAA không có khả năng tạo rễ cũng như tạo sẹo, tuy nhiên khi tăng nồng độ NAA trong môi trường lên cao (1,5 và 2,0 mg/L NAA), có sự hình thành mô sẹo nhưng số lượng hình thành mô sẹo thấp, không đáng kể nên không ghi nhận số liệu.

3.2. Nội dung 2: Ảnh hưởng của chất điều hòa sinh trưởng thực vật lên sự phát sinh hình thái từ nguồn mẫu *in vitro*

Kết quả ở Bảng 7 cho thấy các loại auxin (IAA, IBA, NAA) đều có khả năng kích thích sự tạo rễ bất định từ mẫu lá cây bá bệnh, tuy nhiên nồng độ bắt đầu khởi phát sự ra rễ là khác nhau giữa các loại auxin: với NAA nồng độ bổ sung 1,0 mg/L đã có sự hình thành rễ bất định (Hình 1e, 1f), trong khi đó IAA là 1,5 mg/L và IBA là 2,0 mg/L. Ngoài ra, NAA cho kết quả hình thành rễ cao hơn so với IBA và IAA (với NAA cho kết quả cao nhất ở 1,0 mg/L NAA bổ sung sự phát sinh rễ đạt 2,5 rễ/mẫu, chiều dài rễ trung bình 23,8 mm, tỷ lệ tạo rễ 80,0%, với IBA kết quả cao nhất ở 2,0 mg/L sự phát sinh rễ đạt 0,8 rễ/mẫu, chiều dài trung bình là 7,5 mm, tỷ lệ tạo rễ đạt 60% và IAA kết quả cao nhất tỷ lệ hình thành rễ chỉ đạt 1,8 rễ/mẫu, chiều dài

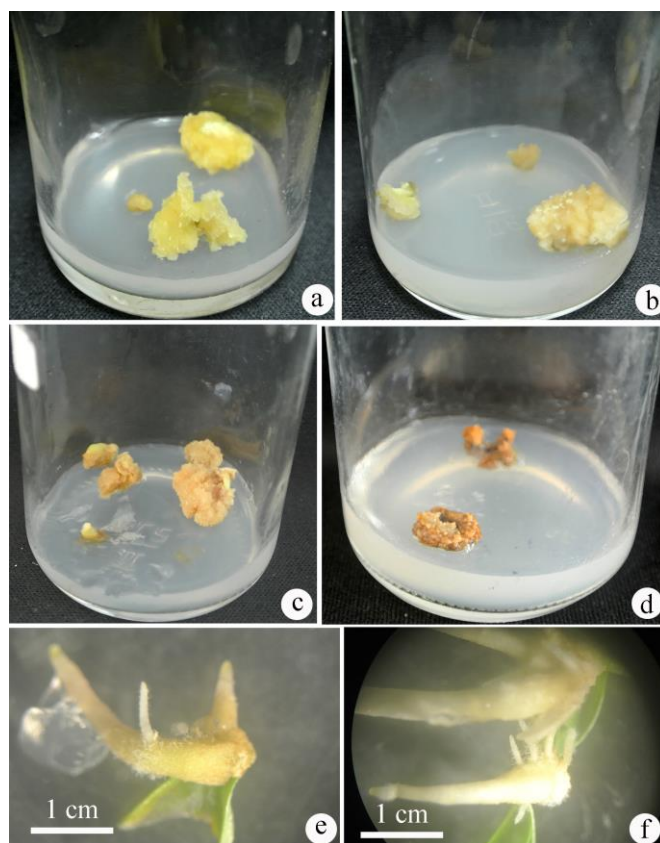
rễ trung bình là 10,4 và tỷ lệ tạo rễ là 80%). Kết quả này tương đồng với kết luận trong báo cáo của Hussein và cộng sự (2012), NAA có hiệu quả cao hơn IBA và IAA trong nuôi cấy tạo rễ bất định từ lá cây bá bệnh [9]. Ngoài ra, ảnh hưởng của nồng độ auxin bổ sung vào môi trường nuôi cấy cũng ảnh hưởng trực tiếp đến sự phát sinh rễ bất định của mẫu lá cây bá bệnh. Cụ thể là trong môi trường bổ sung NAA, khi tăng nồng độ NAA thì khả năng phát sinh rễ bất định đi theo chiều hướng giảm xuống (ở 1 mg/L NAA cho kết quả cao nhất 2,5 rễ/mẫu, chiều dài rễ trung bình 23,8 mm, tỷ lệ tạo rễ 80,0%, ở 1,5 mg/L kết quả đạt 2,1 rễ/mẫu, chiều dài rễ trung bình 13,3 mm, tỷ lệ tạo rễ 73,3% và với 2 mg/L NAA tỷ lệ rễ/mẫu là 1, chiều dài rễ trung bình đạt 6,7 mm, tỷ lệ tạo rễ 53,3%).

Bên cạnh đó, mẫu lá *in vitro* được sử dụng trong nghiên cứu này cho khả năng phát sinh rễ tối ưu hơn so với mẫu lá từ cây *ex vitro*, trong nghiên cứu này khi sử dụng nguồn mẫu lá *ex vitro* hầu như không có sự hình thành rễ (thí nghiệm ở nội dung trên). Trong báo cáo của Hussein và cộng sự (2012) trên loài cây bá bệnh, khi nuôi cấy mẫu lá *ex vitro* trên môi trường MS bổ sung 1,0 mg/L NAA khả năng phát sinh rễ trên mẫu chỉ đạt 1,7 rễ/mẫu, thấp hơn so với mẫu *in vitro* [9].

Bảng 7. Ảnh hưởng của NAA, IBA, IAA với các nồng độ khác nhau lên khả năng phát sinh rễ bất định từ lá của cây bá bệnh nuôi cấy *in vitro*

Chất điều hòa sinh trưởng	Nồng độ	Tỷ lệ mẫu hình thành rễ (%)	Chiều dài rễ (mm)	Số rễ/mẫu
NAA	0,5	0,0	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,0	80,0	23,8 ^a	2,5 ^a
	1,5	73,3	13,3 ^b	2,1 ^{ab}
	2,0	53,3	6,7 ^c	1,0 ^c
IBA	0,5	0,0	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,0	0,0	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,5	0,0	0,0 ^d	0,0 ^d
	2,0	60,0	7,5 ^c	0,8 ^c
IAA	0,5	0,0	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,0	0,0	0,0 ^d	0,0 ^d
	1,5	60,0	9,3 ^{bc}	1,1 ^c
	2,0	80,0	10,4 ^{bc}	1,8 ^b
P			*	*

*Các chữ cái a, b... trong cùng một cột thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa ở mức $p=0,05$.



Hình 1. Một số hình thái mô sẹo và hình thái rễ; (a) mô sẹo có màu vàng và xốp; (b) mô sẹo có màu trắng và xốp; (c) mô sẹo có màu nâu và xốp; (d) mô sẹo có màu vàng và cứng; (e) sự hình thành rễ bất định từ lá; (f) sự hình thành rễ nhánh.

4. KẾT LUẬN

Ảnh hưởng của CĐHSTTV lên sự phát sinh hình thái mô sẹo của các mẫu khác nhau là khác nhau. Môi trường nuôi cấy thích hợp cho sự phát sinh hình thái mô sẹo của mẫu từ diệp, mẫu lá non và cuống lá non lần lượt là môi trường MS có bổ sung 3,0 mg/L NAA + 0,5 mg/L BA; 0,5 mg/L NAA + 0,5 mg/L BA; 1,0 mg/L NAA + 2,0 mg/L BA. Mô sẹo thu được từ nuôi cấy mẫu từ diệp có màu vàng, xốp; trong khi mô sẹo thu được từ mẫu cây lá và cuống lá có màu trắng, xốp. Sự kết hợp các nhóm CĐHSTTV khác nhau cũng ảnh hưởng khác nhau đến sự phát sinh hình thái mô sẹo của cây bá bệnh. Môi trường nuôi cấy có bổ sung BA kết hợp với NAA cho khả năng cảm ứng tạo mô sẹo tốt hơn so với sử dụng BA kết hợp với TDZ.

Trong nghiên cứu phát sinh rễ bất định ở lá *in vitro* của cây bá bệnh, NAA cho kết quả hình thành rễ cao hơn so với IBA và IAA. NAA cho kết quả cao nhất ở nồng độ 1,0 mg/L với sự phát sinh rễ đạt 2,5 rễ/mẫu, chiều dài rễ trung bình 23,8 mm, tỷ lệ mẫu tạo rễ 80,0%. Không có sự hình thành rễ ở mẫu lá *ex vitro* ở tất cả các nghiệm thức.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ Thành phố Hồ Chí Minh đã hỗ trợ kinh phí thực hiện nghiên cứu này (theo hợp đồng số 64/2018/HĐ-SKHCN ngày 21/6/2018).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Shaheed U.R., Kevin Ch., Hye H.Y. - Review on a traditional herbal medicine: *Eurycoma longifolia* Jack (Tongkat Ali): its traditional uses, chemistry, evidence-based pharmacology and toxicology, *Molecules* **21** (3) (2016) 331.
2. Jiwajinda S., Santisopasri V., Murakami A., Hirai N. and Ohigashi H. - Quassinoids from *Eurycoma longifolia* as plant growth inhibitors, *Phytochemistry* **58** (6) (2001) 959-962.
3. Ang H., Ikeda S., Gan E.K. - Evaluation of the potency activity of aphrodisiac in *Eurycoma longifolia* Jack, *Phytotherapy Research* **15** (5) (2001) 435-436.
4. Kuo P.C., Damu A.G., Lee K.H., Wu T.S. - Cytotoxic and antimalarial constituents from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Biorganic & Medicinal Chemistry* **12** (2004) 537-544.
5. Miyake K., Li F., Tezuka Y., Awale S., Kadota S. - Cytotoxic activity of quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *Natural Product Communications* **5** (7) (2010) 1009-1012.
6. Le Van Thoi, Nguyen Ngoc Suong - Constituents of *Eurycoma longifolia*, *The Journal of Organic Chemistry* **35** (4) (1970) 1104-1109.
7. Pham Bich Ngoc, Thanh Binh Pham, Hai Dang Nguyen, Thu Trang Tran, Hoang Ha Chu and Van Minh Chau, Jeong H.L., Tien Dat Nguyen - A new anti-inflammatory β -carboline alkaloid from the hairy-root cultures of *Eurycoma longifolia*, *Natural Product Research* **30** (12) (2016) 1360-1365.
8. Mahmood M., Normi R. and Subramaniam S. - Optimization of suitable auxin application in recalcitrant woody forest plant of *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali) for callus induction, *African Journal of Biotechnology* **9** (49) (2010) 8417-8428.
9. Hussein S., Ling A.P.K., Tze H.Ng., Ibrahim R. and Paek K.Y. - Adventitious roots induction of recalcitrant tropical woody plant *Eurycoma longifolia*, *Romanian Biotechnological Letters* **17** (1) (2012) 7026-7035.
10. Zawawi D.D., Ja'afar H., Zainuddin R., Kari R., Mohd N.M. - Thidiazuron induces high frequency direct somatic embryogenesis growth from cotyledon culture of *Eurycoma longifolia*, *Sains Malaysiana* **44** (7) (2015) 913-920.
11. Murashige T., Skoog F. - A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture, *Physiologia plantarum* **15** (1962) 473-497.
12. Duncan D.B. - Multiple range and multiple F test, *Biometrics* **11** (1955) 1-42.
13. Murnilawati A.G.H., Masitah H., Rosna M.T. - Callus induction from tobacco (*Nicotiana tabacum*) leaf explants for the production of quinone, *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* **13** (5/6) (2008) 563-572.
14. Sandra M.K., Allen L.M. - Effect of BA, NAA, and 2,4-D on red maple callus growth, *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **10** (1987) 57-63.

ABSTRACT

RESEARCH THE EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS ON MORPHOGENESIS FROM DIFFERENT EXPLANT SOURCES OF *Eurycoma longifolia*

Tran Trong Tuan^{1*}, Nguyen Le Hoa Tien¹, Nguyen Thi Duoc¹,
Nguyen Thi Huyen Trang¹, Do Dang Giap¹, Trinh Thi Huong²

¹*Institute of Tropical Biology*

²*Ho Chi Minh City University of Food Industry*

*Email: trantrongtuan.com@gmail.com

This study was conducted to investigate the effect of plant growth regulators and the type of explants on morphogenesis in *Eurycoma longifolia*. The results showed that, for the cotyledon explants: the rate of callus formation and the fresh weight were the highest, 96.3% and 258 mg respectively when the explants were cultured on the MS medium supplemented with 3.0 mg/L NAA in combination with 0.5 mg/L BA, the calli were yellow and friable; for young leaf explants: the rate of callus formation and fresh weight reached the highest, 100% and 99 mg respectively when the explants were cultured on the MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA in combination with 0.5 mg/L BA, the calli were white and friable; for young petiole explants, the rate of callus formation and fresh weight were the highest 100% and 56 mg respectively when the explants were cultured on the MS medium supplemented with 1.0 mg/L NAA in combination with 2.0 mg/L BA, calli were white and friable. The callogenesis time of the petiole explants occurred earlier than callogenesis time of leaf and cotyledons explants. The callus formation rate of treatment using BA combined with TDZ was lower than treatment using BA combined with NAA. The results of this study show that the collected calli have different morphology and colors. This will be a diverse source of materials to serve many different research directions such as embryogenesis, cell suspension culture to receive secondary compounds... In the study of adventitious rooting of *in vitro* leaf explants, NAA is suitable for the formation of adventitious roots of *Eurycoma longifolia*. The research results showed that the average rooting ratio, number of roots/explants and average root length reached the highest, 80%, 2.5 roots/explants, 23.8 mm respectively in the treatment using 1.0 mg/L NAA. There was no root formation in *ex vitro* leaves explants in all treatments.

Keywords: BA, callus, cotyledon, *Eurycoma longifolia*, leaves, NAA, petiole, TDZ.